



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل

دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت دریافت درجه دکترای حرفه ای در رشته ی پزشکی

عنوان:

بررسی ارتباط میان پلی مورفیسم ال C نوکلئوتید ۵۱۱ سیتوکین  $IL-1\beta$  با سرطان  
در بیماران مبتلا به سرطان معده در استان اردبیل

استاد راهنما: دکتر سید سعید حسینی اصل

استاد مشاور: دکتر محمد مأذنی

نگارش: الهام نیاستی

تابستان ۱۳۹۰

شماره پایان نامه: ۰۳۷۴

بررسی ارتباط میان پلی مورفیسم ال C نوکلئوتید ۵۱۱ سیتوکین IL-1 $\beta$  با سرطان در بیماران مبتلا به سرطان معده در استان اردبیل

## چکیده

**مقدمه:** سرطان معده بعنوان دومین عامل مرگ ناشی از سرطان پس از سرطان ریه دارای شیوع جغرافیایی بسیار متنوعی است که در سطح استان اردبیل بطور چشمگیری شیوع بالایی دارد. بررسی عوامل ژنتیکی دخیل در کسب استعداد ابتلا به سرطان دارای اهمیت بالایی می باشد. IL-1 $\beta$  یک سایتوکاین پیش التهابی با چندین اثر بیولوژیکی می باشد که با تأثیر روی ترشح اسید معده با سرطان معده در ارتباط می باشد.

**مواد و روش ها:** ۱۰۰ فرد مبتلا به سرطان معده و ۱۰۰ فرد فاقد سرطان معده به عنوان گروه کنترل جهت انجام تحقیق انتخاب گردیدند و پس از جدا سازی و استخراج DNA از خون محیطی ایشان، توسط روش PCR، ژن IL-1 $\beta$  این افراد تکثیر داده شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با آنزیم محدود کننده مجاورت داده شد.

**نتایج:** ۱۹٪ بیماران واجد نوکلئوتید C به صورت هموزیگوت، ۶۰٪ هتروزیگوت و ۲۱٪ آنها فاقد آن بودند در مقابل در گروه شاهد، ۴٪ واجد نوکلئوتید C به صورت هموزیگوت، ۶۷٪ هتروزیگوت و ۲۹٪ آنها فاقد آن بودند. با تجزیه و تحلیل آماری بر اساس  $P=0/0033$  ارتباط معنی داری بین دو گروه مورد بررسی وجود دارد.

**نتیجه گیری:** در مطالعه ی حاضر سعی بر بررسی ارتباط میان پلی مورفیسم ال C نوکلئوتید ۵۱۱ سیتوکین IL-1 $\beta$  با سرطان معده در بیماران مبتلا به سرطان معده در استان اردبیل بود که با توجه به تجزیه و تحلیل داده ها، این ارتباط معنی دار بود. بنابراین با توجه به یافته های این طرح می توان از این ارتباط برای تشخیص زودرس و پیش آگهی سرطان معده در افراد مستعد سود جست.

کلمات کلیدی: سرطان معده، پلی مورفیسم، IL-1 $\beta$ ، سایتوکاین

## فهرست مطالب

عنوان	صفحه
-------	------

### فصل اول: طرح تحقیق

۱-۱- مقدمه.....	۲
۱-۲- بیان مسئله.....	۳
۱-۳- تعریف واژه‌های کلیدی.....	۵
۱-۴- اهداف.....	۵
۱-۴-۱- هدف کلی.....	۵
۱-۴-۲- اهداف اختصاصی.....	۶
۱-۴-۳- اهداف کاربردی.....	۶
۱-۵- فرضیات یا سؤالات تحقیق.....	۶

### فصل دوم: بررسی متون

۲-۱- مبانی نظری.....	۹
۲-۱-۱- آدنوکارسینوم معده.....	۹
۲-۱-۱-۱- میزان بروز و اپیدمیولوژی.....	۹

۱۱.....۲-۱-۲- پاتولوژی

۱۲.....۲-۱-۳- اتیولوژی

۱۲.....۲-۱-۳-۱- آدنوکارسینوم نوع روده ای

۱۳.....۲-۱-۳-۲- آدنوکارسینوم منتشر

۱۴.....۲-۱-۴- مورفولوژی

۱۵.....۲-۱-۵- تظاهرات بالینی

۱۶.....۲-۱-۶- تشخیص

۱۹.....۲-۱-۷- درمان

۲۰.....۲-۲- مطالعات جهان

### فصل سوم: مواد و روشها

۲۴.....۳-۱- نوع مطالعه

۲۴.....۳-۲- جامعه آماری و حجم نمونه

۲۴.....۳-۲-۱- جامعه آماری

۲۴.....۳-۲-۲- حجم نمونه

۲۴.....۳-۳- روش گردآوری اطلاعات

۳-۳-۱- مواد لازم.....	۲۴
۳-۳-۱-۱- مواد لازم برای استخراج DNA.....	۲۴
۳-۳-۱-۲- مواد لازم جهت واکنش PCR.....	۲۵
۳-۳-۱-۲-۱- مخلوط واکنش PCR.....	۲۵
۳-۳-۱-۲-۲- مواد لازم جهت الکتروفورز DNA (آگارز).....	۲۶
۳-۳-۲- وسایل مورد نیاز.....	۲۷
۳-۳-۲-۱- وسایل مورد نیاز جهت نگهداری و جمع‌آوری نمونه‌ها.....	۲۷
۳-۳-۲-۲- وسایل لازم جهت انجام واکنش PCR.....	۲۷
۳-۳-۲-۳- وسایل لازم جهت تهیه ژل الکتروفورز آگارز.....	۲۸
۳-۳-۳- دستگاه‌های مورد استفاده .....	۲۸
۳-۳-۴- روش کار.....	۲۸
۳-۳-۴-۱- نمونه گیری.....	۲۸
۳-۳-۴-۲- استخراج DNA از خون .....	۲۹
۳-۳-۴-۳- واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) .....	۳۱
۳-۳-۴-۴- الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز .....	۳۱

۳۲..... RFLP -۳-۳-۴-۵

۳۴..... ملاحظات اخلاقی -۳-۳-۵

۳۴ ..... روش تجزیه و تحلیل داده ها. -۳-۳-۶

#### فصل چهارم: نتایج

۳۷ ..... ارائه ی نتایج

#### فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری

۴۵..... بحث و نتیجه گیری. -۵-۱

۴۸..... محدودیتها. -۵-۲

۴۹..... پیشنهادات -۵-۳

۵۰..... منابع

۵۳..... چکیده انگلیسی

## فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۱-۲ فاکتورهای خطر ساز کارسینوم معده	۱۰.....
جدول ۲-۲ سیستم طبقه بندی برای کارسینوم معده	۱۸.....
جدول ۱-۳ توالی الیگونوکلئوتیدهای مورد استفاده در بررسیهای PCR	۲۵.....
جدول ۲-۳ شرایط دمایی جهت تکثیر ژن	۲۶.....
جدول ۳-۳ شرایط دمایی جهت فعالیت آنزیم	۳۳.....
جدول ۴-۳ طول محصولات ناشی از تأثیر آنزیم روی DNA	۳۳.....
جدول ۱-۴ توزیع گروه سنی در بیماران شرکت کننده در پژوهش	۳۷.....
جدول ۲-۴ توزیع گروه سنی در گروه شاهد	۳۹.....
جدول ۳-۴ نتایج آزمون کای دو برای مقایسه پلی مورفیسم ال C نوکلئوتید ۵۱۱ سیتوکین IL-1 $\beta$ و کانسر معده در دو گروه مورد و شاهد	۴۰.....
جدول ۴-۴ نتایج آزمون کای دو برای مقایسه پلی مورفیسم ال C نوکلئوتید ۵۱۱ سیتوکین IL-1 $\beta$ و نوع آدنوکارسینوم معده در دو گروه مورد و شاهد	۴۱.....
جدول ۵-۴ نتایج آزمون کای دو برای مقایسه جنسیت و پلی مورفیسم ال C نوکلئوتید ۵۱۱ سیتوکین IL-1 $\beta$ در بیماران مبتلا به سرطان معده	۴۲.....

جدول ۶-۴ نتایج آزمون کای دو برای مقایسه جنسیت و پلی مورفیسم الل C نوکلئوتید ۵۱۱ سیتوکین IL-

1β در بیماران مبتلا به سرطان معده ..... ۴۳



## فهرست نمودارها

عنوان	صفحه
شکل ۳-۱ ژن IL-1 $\beta$ واقع بر chr2 (2q13).....	۳۳
شکل ۳-۲ الکتروفورز محصولات حاصل از RLFP بر روی ژل آگارز .....	۳۵
شکل ۴-۱ توزیع جنسی بیماران شرکت کننده .....	۳۷
شکل ۴-۲ فراوانی انواع آدنوکارسینومای معده در بیماران .....	۳۸
شکل ۴-۳ فراوانی پلی مورفیسم ال C نوکلئوتید ۵۱۱ سیتوکین IL-1 $\beta$ در بیماران .....	۳۸
شکل ۴-۴ توزیع جنسی گروه کنترل.....	۳۹
شکل ۴-۵ فراوانی پلی مورفیسم ال C نوکلئوتید ۵۱۱ سیتوکین IL-1 $\beta$ در گروه شاهد .....	۴۰

## فهرست علائم اختصاری

**PCR:** Polymerase Chain Reaction

**DNA:** Deoxyribonucleic Acid

**ELISA:** Enzyme-linked Immunosorbent Assay

**H.Pylori:** Helicobacter Pylori

**IL:** Interleukin

**mRNA:** messenger Ribonucleic Acid

**RFLP:** Restriction Fragmented Length Polymorphism

**GC:** Gastric Cancer

## فصل اول

### طرح تحقيق

### ۱-۱- مقدمه و اهمیت موضوع:

سرطان معده دومین علت مرگ ناشی از سرطان در دنیاست که شیوع جغرافیایی بسیار متفاوتی دارد (۱). میزان مرگ و میر ناشی از سرطان در ۷۵ سال گذشته به طور چشمگیری کاهش پیدا کرده است. با این حال، ۲۱۲۶۰ مورد جدید از سرطان معده در سال ۲۰۰۷ در ایالات متحده تشخیص داده شده و ۱۱۲۱۰ آمریکایی به علت سرطان معده جان خود را از دست داده اند (۲). در بین تومورهای بدخیم معده کارسینوم مهمترین و شایعترین نوع است (۹۵-۹۰٪)، نوع بعدی لنفوم می باشد (۴٪)، بعد کارسینوئید (۳٪) و تومورهای استروما (۲٪) در رده های بعدی قرار دارند (۱). آدنوکارسینومای معده را می توان به ۲ گروه تقسیم کرد:

- نوع منتشر

- نوع روده ای (۲)

کارسینوم نوع روده ای به صورت اولیه در سن ۵۰ سالگی با شیوع بیشتر در مردان اتفاق می افتد (با نسبت مرد به زن ۲ به ۱). کارسینوم منتشر در سن پایین تر اتفاق می افتد و ارجحیت شیوع با زنان است (۱). بر اساس مطالعات انجام شده در کشورمان، توسط وزارت بهداشت و درمان، مشخص شده که آدنوکارسینوم معده، کشنده ترین سرطان در ایران است که تفاوت زیادی در میزان مرگ و میر در استان های مختلف وجود دارد. بر اساس این مطالعات استان اردبیل بالاترین میزان شیوع سرطان را در ایران داراست (۳).

بر اساس مطالعات انجام شده در ایران، در استان اردبیل سرطان معده شایعترین سرطان در مردان (۴۹/۷٪)

همچنین شایعترین سرطان در زنان (۲۵/۴٪) بوده است (۴).

## ۱-۲- بیان مسأله :

سرطان معده دومین علت مرگ ناشی از سرطان در دنیاست که شیوع جغرافیایی بسیار متفاوتی دارد (۱).

اتیولوژی های مختلفی برای سرطان معده یافت شده، از جمله ی آنها: عفونت با H.Pylori، رژیم غذایی، عوامل محیطی و فاکتورهای ژنتیکی، که نهایتاً همه ی این عوامل با هم در ارتباطند (۵).

عفونت H.Pylori قویاً با پیدایش سرطان معده و اولسر دئودنوم در ارتباط است (۶،۷). این دو را به واسطه ی الگوی ترشح اسید معده میتوان افتراق داد؛ در اولسر دئودنوم ظرفیت ترشحی اسید معده افزایش می یابد در حالی که در سرطان معده ظرفیت ترشحی اسید معده، کاهش و منجر به آتروفی سلولهای پاریتال معده می شود (۸،۹).

فاکتورهای میزبان نیز با ظرفیت ترشحی اسید معده در ارتباطند. IL-1 یک سایتوکاین پیش التهابی با چندین اثر بیولوژیکی می باشد. ژن IL-1 روی بازوی بلند کروموزوم ۲ (2q) قرار گرفته است که شامل سه جایگاه با محدوده ی 430Kb می باشد: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  و IL-1RN که هر کدام سیتوکاین های پیش التهابی IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  و آنتاگونیست رسپتور آندوژن IL-1RN را به رمز در می آورد (۱۰).

تنظیم بیان IL-1 $\beta$  در حضور عفونت H.Pylori افزایش یافته (۱۱) و به عنوان یک مانع قوی در برابر ترشح اسید معده عمل می کند (۱۲).

سه پلی مورفیسم در ژن IL-1 $\beta$  گزارش شده است که همگی آنها در محل باز C-T قرار گرفته است؛ در وضعیت -۵۱۱، -۳۱، ۳۹۵۴ bp + (۱۳).